

## 圆头精子症患者的遗传学检测与成功辅助受孕

郑灵燕, 袁萍, 张宁峰, 梁中锟, 王文军\*, 张清学, 杨冬梓  
(中山大学孙逸仙纪念医院生殖中心, 广东 广州 510120)

**摘要:**【目的】分析圆头精子症患者的遗传学发病机制。【方法】回顾分析 1 例圆头精子症患者, 对其进行多种遗传学方法的检测, 包括染色体检查、Y 染色体微缺失基因检测及通过 array-CGH 芯片技术和 Sanger 测序筛查候选基因 *DPY19L2*、*PICK1*、*SPATA16*。【结果】该患者在我中心行两个卵胞浆内单精子显微注射(ICSI)周期后, 其妻孕足月剖宫产一对异卵双胞胎女儿。患者染色体核型为 46,XY、Y 染色体微缺失基因检测未见异常, array-CGH 芯片检测排除了 *DPY19L2*、*SPATA16* 和 *PICK1* 基因及其他该芯片所涵盖区域的 100kb 以上的片段重复或缺失。Sanger 测序 *PICK1*、*SPATA16* 基因也未发现点突变和小片段插入缺失等病理性改变。【结论】圆头精子症患者可通过 ICSI 方式获得健康后代, 本研究排除了已知的候选基因 *DPY19L2*、*PICK1*、*SPATA16* 与该圆头精子症患者的致病相关, 可能存在其他致病基因。

**关键词:**圆头精子; 卵胞浆内单精子显微注射; *DPY19L2*; *PICK1*; *SPATA16*

**中图分类号:**R715.5 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-3554(2015)06-0955-06

### Globozoospermia Patient Treated by Intracytoplasmic Sperm Injection and Genetic Detection

ZHENG Ling-yan, YUAN Ping, ZHANG Ning-feng, LIANG Zhong-kun, WANG Wen-jun\*,  
ZHANG Qing-xue, YANG Dong-zi

(Reproductive Medicine Center, Sun Yat-sen Memorial Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, China)

Corresponding to: WANG Wen-jun, E-mail: wenjungzn@163.com

**Abstract:**【Objective】 This study was aimed to investigate the genetic etiology in a globozoospermia patient. 【Method】 The globozoospermia patient was performed ICSI in our center. We analyze the genetic etiology through karyotype analysis, detection of AZF gene microdeletion in Y chromosome, array-based comparative genomic hybridization (array-CGH) and Sanger sequence in *PICK1* and *SPATA16* gene. 【Result】 His wife had successfully delivered a dizygotic twin sister after 2 cycles of ICSI (intracytoplasmic sperm injection). No abnormalities were found in the genetic detection. 【Conclusion】 The genetic etiology was not found in the globozoospermia patient and therefore some other disease-causing genes might be involved.

**Key words:** globozoospermia; ICSI; *DPY19L2*; *PICK1*; *SPATA16*

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2015, 36(6): 955-960]

圆头精子症 (globozoospermia, round-headed spermatozoa) 是一种罕见的导致男性不育的疾病, 在男性不育患者中的发生率小于 0.1%<sup>[1]</sup>, 主要由于精子发生缺陷导致男性不育, 特点是精子头部呈圆形、顶体异常或缺失, 可伴有杂乱的中和和尾部, 圆头精子症不但有核形态异常, 而且有线粒体

排列异常。1971 年 Schirre 等<sup>[1]</sup>首次报道缺乏顶体的圆头精子症, 之后陆续有个案报道。按照患者圆头精子比例可分为完全型(I型)和部分型(II型)<sup>[2]</sup>, I型患者精液检查圆头精子占 100%, 顶体和顶体酶完全不存在, II型患者精液检查圆头精子 < 100%, 射出的精液中精子保留残余顶体或存

收稿日期: 2015-07-22

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金(13ykpy29)

作者简介: 郑灵燕, 硕士, E-mail: lyzheng6@163.com, 袁萍为并列第一作者; \* 王文军, 通信作者, 副教授, 硕士生导师, E-mail: wenjungzn@163.com

在其他形态类型。由于圆头精子症患者顶体酶低甚至缺乏, 卵胞浆内单精子显微注射(intracytoplasmic sperm injection, ICSI)是目前治疗圆头精子症最有效的方法, 但往往受精率很低, 甚至完全不受精<sup>[3-4]</sup>。Lundin 等<sup>[5]</sup>在 1994 年首次报告了一例圆头精子症患者通过 ICSI 成功获得后代, 随后国内外陆续有报道, 但成功妊娠的报道不多。在精子形成过程中, 任何参与顶体形成的骨架蛋白、高尔基体组装、分子伴侣蛋白或者顶体结构蛋白的异常均有可能导致顶体缺失进而导致形成圆头精子。目前明确的人的圆头精子症的候选基因包括 *SPATA16*、*DPY19L2* 和 *PICK1*<sup>[6-9]</sup>。本研究收集了一例圆头精子症患者, 总结了该患者 3 个 ICSI 周期的临床治疗情况, 并对其进行多种遗传学检测, 包括染色体检查、Y 染色体微缺失基因检测及通过 array-CGH 芯片和 Sanger 测序筛查候选基因 *DPY19L2*、*PICK1*、*SPATA16*, 寻找该圆头精子症患者的致病基因。

## 1 材料与方法

### 1.1 临床资料

患者, 男, 42 岁, 性生活 1~2 次/周, 勃起功能正常, 持续时间及射精功能正常, 因婚后多年未避孕不育就诊, 女方生殖内分泌及妇科检查正常, 男方诊断为原发性不育、极重度畸形精子症。患者自述身体健康, 个人无不良生活习惯, 从事机械模具加工职业, 未接触明显化工及其他有毒有害物质。生殖器检查正常, 双侧睾丸大小正常, 双侧精索静脉未触及异常。患者父母非近亲结婚。本研究经患者及其家属同意, 并获得中山大学孙逸仙纪念医院伦理委员会的批准。

### 1.2 精液检查

患者禁欲 3 d, 采用手淫法取精液置于无菌干燥的精杯中, 精液液化后进行精液常规分析、顶体酶活性及精子形态分析。

### 1.3 细胞遗传学检测

将外周血用 PRMI 1640 培养液于 37 °C CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 72 h, 在终止培养前 1 h 加入 50 μg/mL 秋水仙素, 继续培养 1 h, 将培养的细胞悬液 2 000 r/min ( $r = 12$  cm) 室温离心, 分离的细胞加入 0.075 mol/L KCl 低渗固定, 胰蛋白酶消化及 Giemsa 染色, 染色体片经 G 显带, 进行细胞遗传

学分析, 每个样本至少分析 10 个分裂相。

### 1.4 Y 染色体微缺失基因检测

应用 Qiagen Blood DNA Midi kit 提取外周血基因组 DNA。对 Y 染色体微缺失基因检测试剂盒 (亚能生物, 深圳) 提供的 15 个 Y 染色体无精子因子 (Azoospermia Factor, AZF) 区域上的序列标签 (STS) Y 和内参序列 (SRY) 进行扩增。扩增条件为: 50 °C 10 min, 95 °C 15 min; 94 °C 30 s, 58 °C 60 s, 72 °C 60 s, 35 个循环; 72 °C 10 min, 取 10 μL 扩增产物在 20 g/L 琼脂糖凝胶电泳 120V, 25 min 后, 判断缺失类型。15 个 STS 分别放置在 4 个管, 每管都有 SRY, I 管 (紫色): SRY、sY254、sY143、sY242 及 sY255; II 管 (白色): SRY、sY84、sY239 及 sY152; III 管 (蓝色): SRY、sY86、sY127、sY145 及 sY124; IV 管 (黄色): SRY、sY134、sY82、sY128 及 sY133。

### 1.5 Array-CGH 检测

应用 Qiagen Blood DNA mini kit 提取外周血基因组 DNA, 选用 CytoScan™ HD (Affymetrix, USA) 芯片, 包含约 270 万个标志物, 同时涵盖 SNP 标志物约 75 万个及非多态性标志物约 195 万个, 按 Affymetrix 提供的操作手册, 进行限制性酶消化、连接、PCR 扩增反应、PCR 产物检测、PCR 产物纯化、纯化产物定量、片段化、片段化产物标记、杂交、洗涤、染色和扫描, 然后用 Chromosome Analysis Suite (ChAS) 软件行全基因组拷贝数分析。微阵列判断正常染色体为 3 条“AA”、“AB”和“BB”的 SNP 信号值线。ChAS 软件正常二倍体个体平滑信号值 (Smooth Signal Track) 为 2, 当 20% 嵌合三体细胞时为 2.2, 当 40% 嵌合三体细胞体时为 2.4。

### 1.6 直接测序

针对 *PICK1* (GeneBank NM\_012407) 和 *SPATA16* (GeneBank NM\_031955; <http://genome.ucsc.edu/>) 基因的编码区、外显子-内含子交界区、部分内含子, 使用 Oligo 6.31 软件进行引物设计, 由深圳华大基因公司合成 (表 1), 并进行直接 Sanger 测序。PCR 反应体系为 30 μL, 含 1×PCR Buffer 3 μL、2.5 mmol/L dNTP 2.5 μL、2.5 mmol/L MgCl<sub>2</sub> 3 μL、3.2 mmol/L 上下游引物各 1 μL、1 U/μL *Taq* DNA 聚合酶 (Fermentas, Lithuania) 1.5 μL。反应在 Biometra PCR 仪 (Biometra, German) 上完成。扩增程序为: 95 °C 预变性 3 min; 95 °C 变性 30 s、引物特

表 1 *PICK1*、*SPATA16* 基因测序区域及相应引物Table 1 Sequencing regions and primers of *PICK1* and *SPATA16* genes

Gene	Region	Forward primer sequence 5'-3'	Reverse primer sequence 5'-3'	t/°C
PICK1	Exon1	GCACTGCTGTCCCCTATGA	ACAACCTGATCCACCGCTGAG	60
	Exon2	GGAGCCCCTCAGGAGTTTATA	TGCCTTTGTCATGCCCAAG	58
	Exon3	GGCAGTGGTCAGGTGTCTTC	TGGCAGCCTGGAGGTCT	58
	Exon4	CTCAGTCCAGAACAGTCTTGGC	GAGGAGTGGCTGTGCTAGA	60
	Exon5	TGAGTCTGGGGTCCGAGCTT	CGCAGCCACCACGAAGG	58
	Exon6	GTCAGCAGGCTTTGTGTTAGAA	GTATTTTGTAGGCTGGCATTCC	56
	Exon7	GGGGCTCCTCACGGGTTG	AGGTCAGGCGCTGTGGGTCT	62
	Exon8	TCAGCTCCTCAGGGGGTTTA	GCCAGCCCAGAGGTCAATG	60
	Exon9	GAGAGGGACAAGGCATCAGG	TCAGAGTGCACACAGCGAGAG	60
	Exon10, 11	CCGCTGCCCGCTCTG	GCCTGGCCCTGAGAGTACCC	63
	Exon12	GGGTGGGCTGGGAGAGTCT	CCTGCCACCTCCAAGTCTCT	64
	SPATA16	Exon1	CTTACAAGGCAACAAATACTAA	GGAACCTGCAAAAATCCTAAT
Exon2		TGTAGTTTGGAAAAAGCATCAT	GATCAGGCAAGCTCAGATAGT	50
Exon3		CCTGTGATTTCATTCATT	TGGAGAGTTCGTTATGCTAT	52
Exon4		TGCTTTGTGTTTTGCTTAATA	ATATGCCCAGAGCTACCTT	48
Exon5		TTCAAGACCAAAAATATGTTA	TGTGCTAGAACTATAAAGGC	50
Exon6		ATTACTTCATACCTTTCACATT	CCCACAAAAGAAGATTAGAA	50
Exon7		ATATGGTCTAGGGATGGGACTA	ACTATTTGCCATGTAAGCCTT	52
Exon8		GGAGACTGTGCAAGGCTAT	TTTTCAGTTTTGCCATTAGAAT	52
Exon9		TCGGCAATGACAAGC	TGGGTTTCTTTTTATCCTC	52
Exon10		AGGGAGACCTGTAATGGAA	TGGCCTGTGAATGATTCT	52

异性退火温度(表 1)45 s、72 °C延伸 45 s、共 36 个循环;最后 72 °C延伸 10 min。PCR 产物经大肠杆菌核酸外切酶和虾碱性磷酸酶 (Fermentas, Lithuania) 纯化后以 BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, USA) 按标准程序进行测序。产物在 ABI 3730 测序仪 (Applied Biosystems, USA) 上分析。应用 Sequence Scannerv1.0 (Applied Biosystems, USA) 对测序结果进行分析。

## 2 结 果

### 2.1 临床妊娠结局及精液检查结果

该圆头精子症患者在我中心行 3 个 ICSI 周期,3 个周期的获卵数、卵子成熟率、正常受精率、卵裂率、移植胚胎评分及临床结局详见表 2,3 个周期的受精率分别为 33.33%、35.7%及 37.5%。第 2 周期行 3 个胚胎移植后,其妻子孕足月剖宫产一对异卵双胞胎女儿。3 个周期的精液检测显示,精液总量、精子总浓度和精子活动率均正常,两次重取精液标本后检测精子正常形态百分比为 0%,几乎

无正常形态精子(表 3),镜下显示精子头部为圆形,顶体缺乏(图 1),但精子顶体酶活性检测,显示顶体酶活性为 10.77 μU/M 精子,说明仍存在部分顶体。因此该患者为 II 型圆头精子症。

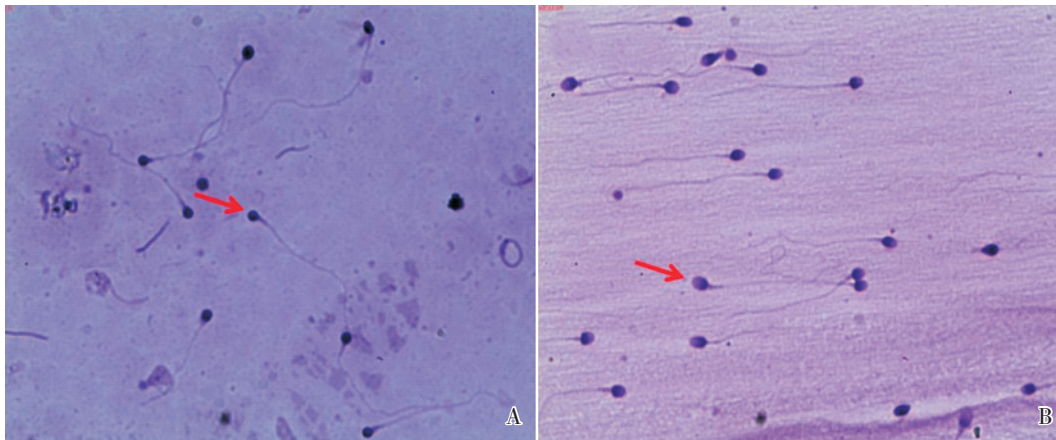
表 2 三个周期胚胎受精与发育情况

Table 2 The fertilization, development of the embryo and clinical outcome in three ICSI cycles

	Cycle 1	Cycle 2	Cycle 3
No.of Oocyte	3	15	9
No.of Matured Oocyte	3	14	8
Matured oocytes rate/%	100	93.3	88.9
No.of 2PN	1	5	3
2PN rate/%	33.3	35.7	37.5
normalcleavage rate/%	100	100	100
No.of Transferred Embryo	1	3	2
The score of Transferred Embryo	4.21	4.12;4.12;7.11	6.12;6.21
The clinical outcome	Negative	Dizygotic twin daughter	Negative

### 2.2 染色体检查和 Y 染色体微缺失基因检测

患者的外周血染色体检测结果为 46.XY,核



A: all the spermatozoa were round-headed and lacked the acrosome, with the head nucleus darkly, fully and densely stained (shown by arrow); B: the normal morphological sperm, with the acrosome (shown by arrow); Diff-Quick staining, 40×10

图 1 患者精子头部形态和正常男性精子形态

Fig.1 Morphology of the sperm head in the globozoospermia patient and normal man

表 3 三个周期的精液处理结果

Table 4 The semen quality of three ICSI cycles

	Cycle 1	Cycle 2	Cycle 3
Semen Volume/mL	2.5	2	2.5
Sperm density/(10 <sup>6</sup> /mL)	130	70	80
Sperm motility/%	70	70	70
Normal sperm morphology rate/%	-	-	0

-; not detected

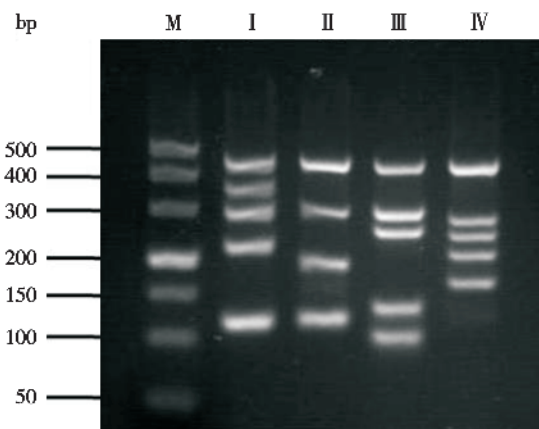
型显示为正常男性。Y 染色体微缺失基因检测 AZF 区域上的 15 个序列标签,未发现 AZFa, AZFb 及 AZFc 单纯缺失及复合缺失(图 2)。

### 2.3 Array-CGH

CytoScan™ HD 芯片能检测出大于 100 ku 的微缺失或微重复,该患者行 CytoScan™ HD 芯片检测后,获得的数据用 Chromosome Analysis Suite (ChAS)软件行全基因组拷贝数分析,在 DPY19L2、SPATA16 和 PICK1 基因及其他该芯片所涵盖区域未发现染色体微缺失或者微重复。

### 2.4 Sanger 直接测序

以患者基因组 DNA 为模板,PICK1 基因的 11 对特异性引物和 SPATA16 基因的 10 对特异性引物在各自的条件下分别扩增出产物。产物纯化后测序,将患者与 Genbank 所公布的序列进行比对,患者的 PICK1 基因和 SPATA16 基因的编码区、外显子-内含子交界区、部分内含子未见致病



M: DL 500 DNA marker; I: SRY, sY254, sY143, sY242 and sY255; II: SRY, sY84, sY239 and sY152; III: SRY, sY86, sY127, sY145 and sY124; IV: SRY, sY134, sY82, sY128 and sY133

图 2 Y 染色体微缺失检测电泳图

Fig.2 The electrophoretogram of AZF gene microdeletion in Y chromosome

性的点突变和小片段插入缺失。分别在 PICK1 基因和 SPATA16 基因的内含子区域发现一些遗传变异(表 4),其中 PICK1 基因发现了 5 个遗传性变异,其中 2 个为新发现的 SNP(single nucleotide polymorphisms),3 个为已知的 SNP:rs2076370、rs760975 和 rs7289911。SPATA16 基因只发现了两个遗传性变异,均为已知的 SNP:rs376919972 和 rs968629,其中一个为纯合变异,一个为杂合变异。

表 4 *PICK1* 和 *SPATA16* 基因的遗传变异  
Table 4 Genetic variations of *PICK1* and *SPATA16* gene in this patient

Gene	Region	Genetic Variation <sup>1)</sup>	Genotype	Identity in dbSNP	MAF inDatabase <sup>2)</sup>
<i>PICK1</i>	Intron-3	c.283-14 T>A	TA	novel	-
	Intron-4	c.349+191 A>G	GG	rs2076370	0.2752
	Intron-4	c.350-260 G>A	GA	novel	-
	Intron-7	c.556+33 G>C	CC	rs760975	0.2780
	Intron-8	c.690+15 G>A	GA	rs7289911	0.1426
<i>SPATA16</i>	Intron-6	c.1228+38 G>A	GA	rs376919972	NA
	Intron-7	c.1339-481 T>C	CC	rs968629	0.4864

dbSNP: database of single nucleotide polymorphisms; NA: no data. 1)Standard nomenclature (www.hgvs.org/mutnomen/) was used for describing sequence variations, with +1 corresponding to the A of the ATG translation initiation codon of GeneBank NM\_012407 for *PICK1* and NM\_031955 for *SPATA16*. 2)Minor Allele Frequency in 1 000 Genomes database

### 3 讨 论

圆头精子症主要由于精子生成缺陷导致男性不育,特点是精子头部呈圆形、顶体缺失或异常,如顶体薄、体积小、泡状顶体、无内容物或电子密度低等异常顶体。按照患者圆头精子比例可分为完全型(I型)和部分型(II型),I型患者精液检查显示圆头精子占100%,顶体和顶体酶完全不存在,II型患者精液检查显示圆头精子<100%,射出的精液中精子保留残余顶体或存在其他形态类型。本研究的样本虽然在染色后镜下见到的几乎都是圆头精子,但其顶体酶活性仍有残留,可能存在一些异常的薄顶体,镜下难以观察到,属于部分型(II型)圆头精子症,因此,在病例上具有独特的特征。

圆头精子症患者,特别是高畸形率的患者,不能正常与卵子受精,因此不育是圆头精子症患者的显著特征。ICSI技术的出现为圆头精子症患者带来了生育的希望,但根据既往的文献报道发现,圆头精子症患者ICSI后出现受精率很低,甚至完全不受精以及低卵裂率等现象<sup>[3-4]</sup>,本研究中的患者3个ICSI周期的受精率都不到40%,明显低于正常水平,但卵裂率正常。与既往的报道相符,因此认为圆头精子对受精的影响显著。

目前认为圆头精子症是一种罕见的导致男性不育的遗传疾病,具有遗传异质性,任何参与顶体形成过程的骨架蛋白、高尔基氏体组装、分子伴侣蛋白或者顶体结构蛋白的异常均有可能导致顶体

缺失进而导致圆头精子形成,因此不同的圆头精子症患者可能有不同的致病基因。通过对圆头精子症的多个家系研究获得了几个不同的圆头精子症致病基因,包括*SPATA16*、*DPY19L2*和*PICK1*<sup>[6-9]</sup>,均呈常染色体隐性遗传。

*SPATA16* (OMIM: #102530)定位于3q26.31,精子发生相关基因16,含有11个外显子,编码蛋白激酶C1,其包含一个TPR结构域,TPR结构域能够调节蛋白质的相互作用以及装配多蛋白复合体,其在顶体的形成过程中起关键作用。在一个犹太不育患者家系,第一次发现了*SPATA16*基因与圆头精子症相关<sup>[8]</sup>,*SPATA16*基因的第4外显子c.848G→A纯合突变是该家系患者发病的分子遗传学基础。*PICK1* (OMIM: #605926)定位于22q13.1,其编码参与蛋白质运输的外膜蛋白,是促进精子顶体发育的关键蛋白,缺失该蛋白将导致精子结构破坏,失去活动能力和受精能力。*PICK1*基因与圆头精子症发生相关首先在一个中国家系被发现<sup>[9]</sup>,*PICK1*基因第13外显子c.198G→A的纯合突变是发病的分子遗传学基础。*DPY19L2* (OMIM: #613958)定位于12q14.2,编码多个跨膜结构域蛋白,促进核致密层的固定,并稳固顶体锚定体盘(在精子头部形成过程中有固定顶体和细胞核的作用)与核外膜之间的连接,其纯合大片段缺失是造成圆头精子症的主要原因,占有已知突变一半以上。2011年Koscinski<sup>[6]</sup>首次在一个约旦的圆头精子症家族发现*DPY19L2*基因是圆头精子症的发病基础,该研究小组发现*DPY19L2*基因在患者中存在200 ku纯合缺失。随后又在其他家系和

散发病例中发现了 *DPY19L2* 基因的不同外显子区域有不同程度的大片段缺失<sup>[7]</sup>,而患者双亲这些区域呈杂合状态,而 *DPY19L2* 基因的纯合缺失多数出现在 I 型圆头精子症患者中。本研究所使用的 AffymetrixCytoScan™ HD 芯片可检测到 100 ku 以上的重复缺失,因此排除了 *DPY19L2*、*SPATA16* 和 *PICK1* 基因及其他该芯片所涵盖区域的 100 ku 以上的片段重复或缺失。另外,通过 Sanger 测序筛查患者 *PICK1* 基因和 *SPATA16* 基因的编码区、外显子-内含子交界区、部分内含子,未发现致病性的点突变和小片段插入缺失。

我们分别在 *PICK1* 基因和 *SPATA16* 基因的内含子区域发现一些 SNP, *PICK1* 基因发现 5 个 SNP,有 3 个杂合变异,在 *SPATA16* 基因的 2 个 SNP 中,只有一个杂合变异。假设基因存在部分外显子的缺失,缺失区域在几十 ku 到 100 kb 之间,该缺失既不能通过 Sanger 测序检测出,而芯片的分辨率也达不到检测要求,则可能得到假阴性的结果。因此本研究仅排除了 *SPATA16* 和 *PICK1* 基因存在致病性的点突变、小片段插入缺失和大于 100 ku 的重复缺失。

在小鼠的模型实验中,发现高尔基体有关的含有 PDZ 和卷曲盘旋的蛋白基因(Golgi-associated PDZ and coiled-coil motif containing protein, Gopc)、HIV-1 转动结合蛋白(HIV-1 Rev binding protein, Hrb)、酪蛋白激酶 II  $\alpha 2$  亚基(casein kinase 2  $\alpha$  prime polypeptide, Csnk2a2)和小鼠 Bs 基因(blind-sterile, Bs)与小鼠圆头精子的发生相关<sup>[10-13]</sup>。因此可能存在其他致病基因。

该圆头精子症患者为核型正常的男性,Y 染色体微缺失基因检测未发现 AZFa, AZFb 及 AZFc 单纯缺失及复合缺失。通过芯片检测排除了 *DPY19L2*、*SPATA16* 和 *PICK1* 基因及其他该芯片所涵盖区域的 100 ku 以上的片段重复或缺失。筛查 *SPATA16* 和 *PICK1* 基因排除了存在致病性的点突变、小片段插入缺失的可能。因此,本研究排除了已知的候选基因与该圆头精子症患者的致病相关。要明确该圆头精子症患者的遗传学致病机制,有待进一步挖掘,例如,可利用新一代测序技术,进行全外显子组扫描寻找致病基因。

#### 参考文献

- [1] Schirren CG, Holstein AF, Schirren C. Uber die Morphogenerundkopfiger Spermatozoen des Menschen [J]. *Andrologia*, 1971, 3(1):117-125.
- [2] Singh G. Ultrastructural features of round-headed human spermatozoa [J]. *Int J Fertil*, 1992, 37(2):99-102.
- [3] Lundin K, Sjogren A, Nilsson L, et al. Fertilization and pregnancy after Intracytoplasmic sperm injection of acrosomeless spermatozoa [J]. *Fertil Steril*, 1994, 62(6):1266-1267.
- [4] Dam AH, Feenstra I, Westphal JR, et al. Globozoospermia revisited [J]. *Hum Reprod Update*, 2007a, 13(7):63-75.
- [5] Sahu B, Ozturk O, Serhal P. Successful pregnancy in globozoospermia with severe oligoasthenospermia after ICSI [J]. *J Obstet Gynaecol*, 2010, 30(9):869-870.
- [6] Kosciński I, Elinati E, Fossard C, et al. *DPY19L2* deletion as a major cause of globozoospermia [J]. *Am J Hum Genet*, 2011, 88(9):344-350.
- [7] Harbuz R, Zouari R, Pierre V, et al. A recurrent deletion of *DPY19L2* causes infertility in man by blocking sperm head elongation and acrosome formation [J]. *Am J Hum Genet*, 2011, 88(9):351-361.
- [8] Dam AH, Kosciński I, Kremer JA, et al. Homozygous mutation in *SPATA16* is associated with male infertility in human globozoospermia [J]. *Am J Hum Genet*, 2007, 81(8):813-820.
- [9] Liu G, Shi QW, Lu GX. A newly discovered mutation in *PICK1* in a human with globozoospermia [J]. *Asian J Androl*, 2010, 12(8):556-560.
- [10] Yao R, Ito C, Natsume Y, et al. Lack of acrosome formation in mice lacking a Golgi protein, Gopc [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2002, 99(9):11211-11216.
- [11] Kang-Decker N, Mantchev GT, Juneja SC, et al. Lack of acrosome formation in Hrb deficient mice [J]. *Science*, 2001, 294(9):1531-1533.
- [12] Pirrello O, Machew N, Schimdt F, et al. Search for mutations involved in human globozoospermia [J]. *Hum Reprod*, 2005, 20(8):1314-1318.
- [13] Spence SE, Gilbert DJ, Harris BS, et al. Genetic localization of *Hao-1* blind-sterile (bs), and *Emv-13* on mouse chromosome 2 [J]. *Genomics*, 1992, 12(8):403-404.

(编辑 徐杰)